

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München

Das NNCD Reagenz und seine praktische Anwendung
bei der photometrischen (Nor) Adrenalinbestimmung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

JOSEF KERN

aus Freising/Obb.

1957

THE MIND OF THE FUTURE

THE MIND OF THE FUTURE

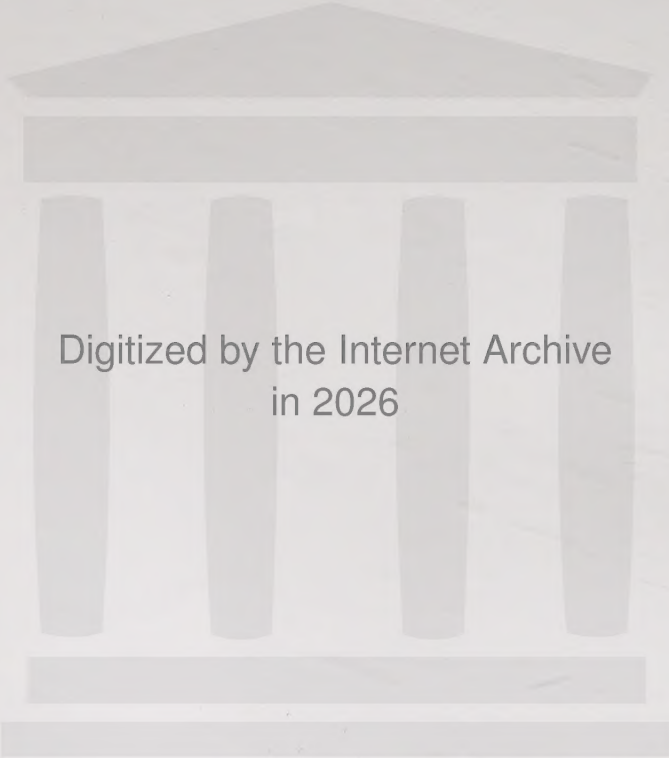
THE MIND OF THE FUTURE

THE MIND OF THE FUTURE

THE MIND OF THE FUTURE

THE MIND OF THE FUTURE

THE MIND OF THE FUTURE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Das NNCD Reagenz und seine praktische Anwendung
bei der photometrischen (Nor) Adrenalinbestimmung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
JOSEF KERN
aus Freising/Obb.



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Referent: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

Dekan Prof. Dr. W. Bängeler.

Tag der mündlichen Prüfung 3. IV. 1957

Meiner lieben Mutter

EINLEITUNG

Seitdem im Jahre 1855 von Addison die Nebenniere als lebenswichtiges Organ erkannt wurde, gibt es Versuche, Klarheit über die Wirkungsweise der Hormone dieses Organes zu gewinnen. Um nun Einsicht in diese Vorgänge zu bekommen, ist es doch nötig, eine Methode zu haben, die es gestattet, die von der Nebenniere produzierten Hormone quantitativ im Organismus zu bestimmen. Eines dieser Hormone ist das Nor- bzw. Adrenalin. Die Versuche es zu bestimmen, reichen schon sehr weit zurück. Dabei wurden im Wesentlichen zwei Wege beschritten. Der erste dieser Wege ist der biologische Nachweis. Man bedient sich dabei verschiedener Organe von Tieren, deren Fasern sich durch Betupfen mit Adrenalin verkürzen. Die Größe der Verkürzung ist dann ein Maßstab für die Konzentration des Adrenalins. Der zweite Weg ist der der chemischen Bestimmung. Man bedient sich dabei der beim Zusammenbringen mit verschiedenen chemischen Substanzen mit Adrenalin auftretenden Farbe, die man dann photometrisch in ihrer Stärke überprüft. Dabei ist die Farbintensität direkt proportional der Noradrenalin bzw. Adrenalinmenge. Die meisten dieser Farbreaktionen beruhen auf einem Reduktions-Oxydationsvorgang. Da aber diese Reaktionen hinsichtlich ihrer Spezifität manches zu wünschen übrig lassen, suchte ich nach einer Reaktion, die auf anderen Prinzipien aufgebaut ist. Das von SCHULER und HEINRICH¹ beschriebene α - und β -naphtalinsulfosaure 4-Nitro-2-Chlor-1-Diazobenzol (N N C D) schien mir einer Überprüfung und praktischen Anwendung wert. Die vorliegende Arbeit, entstanden auf Anregung von Herrn Professor Dr. Bingold † befaßt sich nun mit diesem Fragenkomplex. An dieser Stelle sei noch erwähnt, daß die Beschaffung des Reagenz ungeahnte Schwierigkeiten machte, weshalb mein besonderer Dank den Farbwerken BAYER-LEVERKUSEN gebührt, die mir ausreichende Versuchsmengen zur Verfügung stellten.

I. Vorbemerkungen

HEINRICH und SCHULER¹ beschrieben das α - und β -naphtalinsulfosäure 4-Nitro-2-Chlor-1-Diazobenzol (NNCD) zum Nachweis von (Nor) Adrenalin. Es handelt sich dabei um ein Reagenz, das mit Dioxybenzolen reagiert. Mit (Nor) Adrenalin gibt es eine gelbe Farbe.

Die Vorteile des NNCD gegenüber anderen Bestimmungsmethoden bestehen darin, daß es sich hierbei um eine Diazoreaktion mit Ausbildung von Doppelbindungen, nicht aber um einen Redox-Vorgang handelt. Auch kann die Reaktion in sauerem Milieu durchgeführt werden, „sodaß der zerstörende Einfluß alkalischer Stoffe entfällt“ (HEINRICH und SCHULER). Die Autoren führten ihre Untersuchungen wie folgt aus: 10 ml der zu untersuchenden Lösung von pH 2–3 werden in einem Reagenzglas von 2,5 cm äußerem Durchmesser mit eingeschliffenen Stöpsel mit 2 ml einer 0,1 % frisch bereiteten Lösung von β -naphtalinsulfosäure 4-Nitro-2-Chlor-1-diazobenzol von gleichem pH versetzt und 60 Minuten in ein Wasserbad von 35° C gebracht. 12 ml Reagenzlösung von gleichem pH dienen als Leerversuch. Die Autoren kolorimetrieren nach genau einer Stunde in einem lichtelektrischen Photometer in den Wellenbereichen von 400 m μ – 430 m μ .

II. Eigene Modellversuche

Meine Untersuchungen wurden mit dem Beckman-Spektralphotometer Modell Du mit Quarzküvetten von einer Schichtdicke von 10 mm und einer Wasserstofflampe durchgeführt. Als Reagenz verwendete ich die α -Form des NNCD.

Da mein Ziel darin bestand, eine geeignete Methode für die Klinik zu finden, mußte ich in den Modellversuchen mit kleineren Mengen arbeiten, da ja bei der späteren praktischen Anwendung nicht so große Mengen zur Verfügung stehen. Ich ging daher von 2,5 ml Reaktionslösung und 0,5 ml Reagenzlösung aus, was dem vierten Teil der von SCHULER verwendeten Menge entspricht. Bei den Modellversuchen diente mir Suprarenin-Hoechst als Adrenalinkörper.

Zu Beginn der Versuche zeigte sich, daß das NNCD in Wasser schwer in Lösung zu bringen war. Um nun Rückstände zu vermeiden, wurde die Lösung, nachdem das Reagenz gut gelöst und auf pH 3 eingestellt war, filtriert. Dabei gelang es eine schwach rötlich gefärbte Lösung zu gewinnen.

Die Modellversuche liefen dann wie folgt ab:

Von Suprarenin-Hoechst wurden mit Aqua dest. Verdünnungsreihen von 0,1 γ / ml bis 3,5 γ / ml hergestellt. Rein orientierende Versuche wurden zumeist mit 5 γ / ml Suprareninlösungen durchgeführt. Die N N C D =Lösung wurde auf 0,1 % (10 mg Substanz ad 10 ml Aqua dest.) eingestellt. Reaktions- und Reagenzlösung wurden mit n/10 HCL auf pH 3 mittels Merck=Spezialindikatorpapiers eingestellt.

Zunächst wurde die Brauchbarkeit des Reagenz überprüft. Dabei wurde auch schon versucht eine Absorptionskurve aufzustellen. Dabei wurde wie folgt vorgegangen:

2,5 ml der zu messenden Lösung von pH 3 werden mit 0,5 ml 0,1 % N N C D Lösung vom selben pH versetzt. Als Vergleichslösung dienten 3 ml N N C D Lösung von selbem pH. Nach einer Stunde Behandlung im Wasserbad, im gewöhnlichen mit Korken verschlossenem Reagenzglas bei 35–40° C wurde dann photometriert.

Entsprechend den Angaben von SCHULER und Mitarbeitern begann ich mit der Messung bei der Wellenlänge von 400 m μ . Die zu messende Lösung wurde in der schon eingangs erwähnten Weise photometriert. Bei diesen Messungen zeigte sich für eine 5 γ / ml Suprareninlösung folgender Kurvenverlauf:

Tab. 1a	m μ	ϵ	Tab. 1b	m μ	ϵ
	400	0,305		400	0,285
	10	0,325		10	0,225
	20	0,340		20	0,185
	30	0,340		30	0,160
	40	0,325		40	0,140
	50	0,295		50	0,125
	60	0,255		60	0,115
	70	0,210		70	0,110
	80	0,160		80	0,110
	90	0,125		90	0,105
	500	0,100		500	0,104

Für beide Tabellen sei zunächst gesagt, daß die Wellenbereiche von 500 m μ – 600 m μ nicht mehr wiedergegeben sind, da die Extinktionen immer weiter abfallen und keine charakteristischen Eigenschaften mehr aufweisen können. Es sei noch kurz erwähnt, daß die Absorptionskurve in Tab. 1 b wiedergegeben die Kurve der Vergleichslösung gegenüber Aqua dest. ist.

Die Betrachtung beider Kurven (Tab. 1 a und b) zeigt nun, daß die suprareninhaltige Lösung von 400—420/30 m μ kontinuierlich steigt, bei 420/30 m μ ihr Maximum erreicht und dann wieder kontinuierlich abfällt. Die Absorptionskurve der Vergleichslösung gegenüber Aqua dest. dagegen weist in dem angegebenen Meßbereich kein Maximum auf.

Daraus ist nun doch wohl zu schließen, daß das Maximum bei 420/30 m μ dem Suprarenin zuzuschreiben ist.

Da nun HEINRICH und SCHULER¹ eine Empfindlichkeit ihres Reagens von 0,05 γ /ml Dioxybenzol angegeben haben, wollte ich natürlich diesen Empfindlichkeitsgrad auch erreichen. Es zeigte sich sehr bald, daß diese Empfindlichkeit mit der NNCD Vergleichslösung nicht erreichbar war. Deshalb versuchte ich eine andere Vergleichslösung zu finden. Es gelang mir dies nach Modifikation der Vergleichslösung dahingehend, daß ich analog der Meßlösung 2,5 ml Aqua dest. mit 0,5 ml NNCD von 0,1 % versetzte. Das bei den bisherigen Versuchen bei 420/30 m μ auftretende Maximum war jetzt nicht mehr festzustellen. Die Absorptionskurve sah nun wie in Tab. 2 wiedergegeben aus. Tab. 2 zeigt den Kurvenverlauf für eine 2 γ /ml Lösung.

m μ	ϵ
350	0,050
60	0,090
70	0,155
80	0,175
90	0,175
400	0,170
10	0,165
20	0,160
30	0,150
40	0,135
50	0,125

Tab. 2

Wie man aus der Kurve entnehmen kann, tritt bei einer Messung gegen die modifizierte Vergleichslösung das Maximum der Suprareninmeßlösung bei den Wellenlängen 380/90 m μ auf.

Damit gelang es mir nun auch sehr kleine Mengen Suprarenin zunächst im Modellversuch zu erfassen.

Ich stellte mit dieser Methode eine Eichkurve auf, die nun wiedergegeben werden soll.

Tab. 3

Konz./ml	ϵ	Konz./ml	ϵ
0,1 γ /ml	0,018	2,0 γ /ml	0,185
0,5 γ /ml	0,066	2,5 γ /ml	0,245
1,0 γ /ml	0,101	3,0 γ /ml	0,247
1,5 γ /ml	0,156	3,5 γ /ml	0,270

Ich führte für 0,05 γ / ml keine Messung durch, da die Extinktion für 0,1 μ l / ml genügend hoch ist um mit Sicherheit sagen zu können, daß 0,05 γ / ml ebenfalls erfaßbar sind. Die in Tab. 3 wiedergegebene Eichkurve ist für alle folgenden Untersuchungen, mit wenigen Ausnahmen, der Berechnung zu Grunde gelegen.

Es darf vielleicht noch einmal zusammenfassend das Schema für die Ausführung der Messungen wiedergegeben werden:

- 1.) Vergleichslösung war die modifizierte Lösung wie oben beschrieben
- 2.) Gemessen wurde mit Quarzküvetten von 10 mm Schichtdicke und der Wasserstofflampe
- 3.) Gemessen wurde der Wellenbereich von 350 m μ – 450 m μ

In einigen Fällen wurde von der oben angegebenen Vergleichslösung aus technischen Gründen und zur Klärung verschiedener Fragen abgegangen. Es wird in diesen Fällen dann gesondert vermerkt.

Ich darf vielleicht noch darauf hinweisen, daß ich am Beginn meiner Untersuchungen das Verhalten der Lösungen nach 24 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur in verschlossenen Gefäßen beobachtete. Es zeigte sich jedoch bei einer größeren Reihe von Untersuchungen, daß nach 24 Stunden keine Besonderheiten auftreten, die von Bedeutung sein könnten. Es wurde daher in den späteren Untersuchungen auf die 24 Stunden-Kontrolle bewußt verzichtet.

III. Versuche mit Plasma

Ausgehend von der Überlegung, daß im Plasma kleine Mengen (Nor) Adrenalin zu erwarten sind, trachtete ich nach einer Anreicherung der zu bestimmenden Substanzen. Dabei bediente ich mich der von SHAW² angegebenen Methode der Aluminiumadsorption. Der Autor gibt hiebei eine selbstbereitete Suspension an, die wie folgt herzustellen ist:

10 g NaOH in 40 ml Wasser auflösen; 50 g Kalialaun in 400 ml heißen Wasser auflösen und auf 20° C abkühlen. Der Niederschlag, der sich beim Zusammenbringen beider Lösungen bildet, wird gefiltert und mit 200 ml Wasser suspendiert.

Auch in unserem Labor wurde diese Adsorption durch EDEL und LITTIG⁸ durchgeführt. Der Zweck ist dabei ein zweifacher. Zum ersten erreicht man damit eine Anreicherung, zum zweiten doch eine gewisse Trennung der im Plasma vorkommenden Dioxybenzole. SHAW² gibt zwar eine absolute Spezifität an, der wir nach unseren Beobachtungen nicht ganz zustimmen

können. Im folgenden darf kurz die Methodik angegeben werden, nach der ich meine Untersuchungen durchführte:

A.) Vorbereitung des Blutes

- 1.) 30–35 ml Blut das mit 1 Ampulle = 100 mg Thrombocid versetzt ist, wird 15 Min. bei 3–4000 U/min zentrifugiert.
- 2.) 15 ml des so gewonnenen Plasmas werden mit dem gleichen Volumen 1,55 % Uranylacetat versetzt und wiederum 15 Min. bei 3–4000 U/min zentrifugiert.
- 3.) Das so gewonnene, klare enteiweißte Plasma wird mit schwacher NaOH und Mercks Spezialindikatorpapier auf einen pH Wert von 7,4 – 8 gebracht.
- 4.) Zu dem so vorbereiteten Plasma werden 5 ml Al-Suspension nach SHAW² gegeben. Das Gemisch wird nun 10 Min. lang vorsichtig geschüttelt.
- 5.) Das Gemisch wird 15 Min. bei 3–4000 U/min zentrifugiert. Die nach dem Zentrifugieren überstehende Flüssigkeit wird entfernt, Reste an der Wand mit einem Filtrierpapier vorsichtig abgesaugt.
- 6.) Das Eluat wird mit 3 ml eines Acetatpuffers von pH 4,0 aufgelöst und wiederum 10 Min. lang vorsichtig geschüttelt. Danach erfolgt erneutes Zentrifugieren von 15 Min. Dauer bei 3–4000 U/min. Die nun überstehende Flüssigkeit wird vorsichtig abpipetiert.

B.) Färbung mit NNCD

- 1.) 2,5 ml so gewonnener Flüssigkeit werden mit n/10 HCL auf pH 3,0 eingestellt und mit 0,5 ml 0,1 % frisch bereiteter NNCD Lösung von gleichem pH versetzt.
- 2.) Meß- und Vergleichslösung werden 60 Min. bei 35–40° C im verschlossenen Gefäß im Wasserbad erwärmt.
- 3.) Nach genau einer Stunde wird nach angegebener Methode in einem Wellenbereich von 350–450 m μ photometriert.

Nach vorstehend angegebenem Schema wurde in überwiegender Zahl der Fälle gearbeitet. Wie schon an anderer Stelle erwähnt, wurde zur Klärung verschiedener Fragen im Rahmen der Untersuchungen gelegentlich von dieser Standardmethode, die als die brauchbarste zu bezeichnen ist, abgewichen. Ich werde in den entsprechenden Fällen darauf hinweisen, wenn sich die Abweichung nicht schon aus dem Zusammenhang ergibt.

Erläuterung und Begründung der einzelnen Schritte.

Die Punkte A 1 und 2 bedürfen wohl keiner besonderen Erklärung, sind sie doch in jedem klinischen Laborbetrieb übliche Maßnahmen.

Zu A 3.) Nach SHAW² ist ein pH Wert von 7,4 bzw. 8 erforderlich, um Noradrenalin bzw. Adrenalin maximal an Aluminium zu adsorbieren.
 Zu A 6.) Ebenfalls nach SHAW wird (Nor) Adrenalin bei pH 4,0 maximal herausgelöst.

Zu B 1/2) Sowohl nach SCHULER und Mitarbeitern¹, als auch auf Grund meiner eigenen Vor- und Modellversuche ist bei einem pH von 3 und 60 Min. Wasserbad bei 35–40° C die NNCD Färbung eine optimale.
 Die Untersuchung soll nach Möglichkeit sofort nach der Blutentnahme vorgenommen werden, aus Gründen, die bei Diskussion der Methode noch näher zu erläutern sein werden.

Nach der vorstehend entwickelten Methode wurden 10 Plasmata von Gesunden, d. h. Patienten der Klinik, die nicht an einer Erkrankung litten, die die (Nor) Adrenalinkonzentrationen beeinflussen könnte, untersucht.

Ich fand dabei bei 380/90 m μ das Extinktionsmaximum, das in seiner Höhe ziemlich konstant war. Die Schwankungsbreite entsprach aber durchaus den möglichen Konzentrationsunterschieden von (Nor) Adrenalin. Die Tatsache, daß das Maximum an der Stelle auftrat, an der es auch im Modellversuch mit Suprarenin zu finden war, ließ doch mit einiger Wahrscheinlichkeit den Schluß zu, daß im Plasma tatsächlich (Nor) Adrenalin-körper gemessen wurden.

Tab. 4

m μ	ε ohne Zusatz	ε mit Zusatz
350	0,025	0,030
60	0,040	0,042
70	0,195	0,235
80	0,270	0,320
90	0,270	0,320
400	0,250	0,290
10	0,226	0,270
20	0,200	0,245
30	0,180	0,220
40	0,160	0,195
50	0,134	0,172

Um nun zu eruieren, ob das Maximum in seiner Höhe von Adrenalin abhängig ist, wurden Versuche mit verschiedenen Zusätzen angestellt. Es darf der Anschaulichkeit wegen eine dieser Kurven wiedergegeben werden. Zunächst aber noch eine kurze Erläuterung zur Technik dieser Untersuchungen. Bei dem in Tab. 4 wiedergegebenen Versuch wurde ein und das

selbe Plasma verwandt. Nach der Enteiweißung wurde das Plasma geteilt. Dann wurde dem einen Teil pro ml Plasma 5 γ Suprarenin zugesetzt. Sodann wurden beide Teile, also der Anteil mit und der ohne Zusatz, nach angegebener Methodik verarbeitet.

Es sei gestattet an dieser Stelle etwas über die Auswertung und praktische Anwendung der Kurven zu sagen. Der Grad der Konzentration ist bei 15 ml Ausgangslösung und 3 ml Endlösung 1 : 5, d. h. ich habe auf das 5 fache der Ausgangssubstanz konzentriert. Aus der Eichkurve ist für die Messung ohne Zusatz eine Konzentration von 3,5 γ / ml, für die mit Zusatz eine Konzentration von 5 γ / ml abzulesen. Aus dem vorher Gesagten ergibt sich dann folgende Berechnung:

Ohne Zusatz 3,5 γ / ml Ablesung; Konzentration 1 : 5

$$\text{Somit: } 3,5 : 5 = 0,7$$

$$0,7 \gamma / \text{ml}$$

Mit Zusatz 5,0 γ / ml Ablesung; Konzentration 1 : 5

$$\text{Somit: } 5 : 5 = 1$$

$$1,0 \gamma / \text{ml}$$

Zunächst erscheint es verwunderlich, daß bei einem Zusatz von 5 γ / ml sich im Endresultat nur um 0,3 γ / ml mehr errechnen. Dazu ist nun zu bemerken, daß

- 1.) die Al-Suspension sicher nicht immer optimal absorbiert; es liegt dies eben innerhalb der Fehler der Methode, über die noch zu sprechen sein wird.
- 2.) von uns, KUMPF, EDEL und LITTIG⁸ die Beobachtung gemacht wurde, daß das zugegebene Suprarenin irgendwelche Veränderungen erfährt oder selbst Vorgänge auslöst, die geeignet sind, eine Veränderung herbeizuführen.

Über die Brauchbarkeit der Al-Suspension.

Um einen Überblick über die Wirkungsweise der Al-Suspension zu erhalten, wurde folgender Versuch durchgeführt. Ausgehend von der theoretischen Überlegung, daß bei verändertem Konzentrationsgrad eine entsprechende Änderung in der Höhe des Maximums auftreten müßte, stellte ich das nun folgende Experiment an.

Von einem Patienten unserer Klinik mußte aus therapeutischen Gründen ein Aderlaß durchgeführt werden. Dieses Blut wird nun nach angegebener Methode behandelt. Nach der Enteiweißung wurde das gesamte Plasma, etwa 35 ml, auf pH 7,4 – 8 eingestellt und dann in drei Teile geteilt:

1. Teil = 15 ml; 2. Teil = 9 ml; 3. Teil = 6 ml.

Die Teile 1 – 3 wurden dann mit je 5 ml Al-Suspension versetzt und in üblicher Weise weiter behandelt. Bei der Messung wurde in diesem Versuch noch eine Neuerung eingeführt. Ich bestimmte zunächst die Absorption des ungefärbten Plasmaextraktes gegenüber Aqua dest. (I), dann die Absorption des gefärbten Plasmaauszuges gegenüber unserer Vergleichslösung (II). Aus diesen beiden Kurven wird dann durch Subtraktion die eigentliche, zur Auswertung bestimmte Kurve ermittelt. Ich erhielt dann folgendes Bild:

mμ	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε
	I			II			II – I			
	1.	2.	3.	1.	2.	3.	1.	2.	3.	
350	0,032	0,028	0,027	0,210	0,185	0,195	0,178	0,157	0,178	
60	0,020	0,018	0,028	0,290	0,270	0,255	0,270	0,252	0,227	
70	0,020	0,018	0,028	0,440	0,420	0,380	0,420	0,402	0,352	
80	0,018	0,015	0,026	0,500	0,480	0,440	0,482	0,465	0,414	
90	0,017	0,015	0,024	0,480	0,460	0,420	0,463	0,445	0,396	
400	0,017	0,016	0,025	0,440	0,420	0,385	0,423	0,404	0,360	
10	0,015	0,015	0,024	0,385	0,380	0,345	0,370	0,365	0,321	
20	0,016	0,014	0,023	0,340	0,335	0,310	0,324	0,321	0,287	
30	0,015	0,014	0,024	0,295	0,290	0,280	0,280	0,276	0,256	
40	0,017	0,015	0,024	0,255	0,260	0,245	0,238	0,245	0,221	
50	0,015	0,014	0,024	0,220	0,225	0,215	0,205	0,211	0,191	

Tab. 5

Bei Berücksichtigung der Konzentrationen und unter Anwendung der schon oben angegebenen Rechnungsweise errechnen sich folgende (Nor) Adrenalinkonzentrationen:

Teil 1: 1/5 0,96 γ/ml | Teil 2: 1/3 1,53 γ/ml | Teil 3: 1/2 2,04 γ/ml

Die Kurven zeigen entsprechendes Abfallen der Extinktionsmaxima, bei der Berechnung der Konzentrationen aber zeigen sich ansteigende Werte. Ich folgerte daraus, daß die Adsorption des (Nor) Adrenalin am Aluminium nicht immer gleich stark ist. Diese Beobachtung machten auch schon LITTIG und EDEL⁸ in früheren Untersuchungen. Man muß eben diese Tatsache als eine weitere Fehlerquelle hinnehmen. Man kann diesen Fehler auf ein Mindestmaß beschränken, wenn man bei Untersuchungen immer von der selben Menge Ausgangssubstanz ausgeht und damit dann eine Vergleichsmöglichkeit besitzt.

Die Messung des ungefärbten Plasmaextraktes gegen Aqua dest. kann auf Grund meiner Ergebnisse vernachlässigt werden, da die Extinktionen dieser Messung doch so gering sind, daß sie die ohnehin doch sehr große Fehlerbreite nur um ein sehr geringes vergrößern.

Zum Schluß der Abhandlung über die Al-Adsorption möchte ich noch darauf hinweisen, daß dazu auch die käuflichen Präparate von Aluminium zur Adsorptionsanalyse verwendet werden können. Auf Grund unserer Erfahrungen aber möchte ich für den speziellen Fall der photometrischen (Nor) Adrenalinbestimmung doch der Al-Suspension nach SHAW² den Vorzug geben. Sie ist in der Adsorptionsfähigkeit doch leistungsfähiger und garantiert doch gegenüber den Fertigpräparaten eine höhere Spezifität. Auch aus versuchstechnischen Gründen bietet sich die selbstbereitete Lösung an. Sie gestattet zum Beispiel ein viel leichteres abpipettieren als das Al-Hydroxyd von Merck das zur Adsorptionsanalyse in fein pulverisierter Form im Handel ist.

Einfluß der Enteiweißung.

Da von Anfang an das Bestreben bestand, aus der gesamten Adrenalinbestimmung eine möglichst einfache, im klinischen Routinebetrieb durchführbaren Methode zu machen, interessierte ich mich, nach dem feststand, daß das NNCD-Reagenz brauchbar ist für eine Vereinfachung und Verkürzung der Methode. Ich versuchte dabei zunächst einmal auf die Enteiweißung zu verzichten. Es soll noch mitgeteilt sein, daß sich die folgenden Versuche in nichts von der Standardmethode unterscheiden, es sei denn, daß eben die Enteiweißung in Fortfall gebracht wird. Im folgenden soll in einer Kurve das Ergebnis dieser Versuche dargestellt sein.

m μ	ϵ	Vergleicht man das Maximum dieser Kurve mit dem der vorher mitgeteilten Kurve II/1 (nur diese Kurve entspricht den Bedingungen der jetzt mitgeteilten) so zeigt sich ein wesentlich höheres Maximum. Es ist dieses um genau das 3,32fache höher. Sicherlich ist die Störungsmöglichkeit beim nicht enteiweißten Plasma größer. Trotzdem aber möchte ich, da das Maximum wieder an der üblichen Stelle liegt annehmen, daß es vorwiegend durch (Nor) Adrenalin hervorgerufen wird. Es darf dabei noch mitgeteilt werden, daß nach KUMPF und EDEL ⁸ etwa 90 % (Nor) Adrenalin durch die Enteiweißung verloren gehen. Wir schlossen daraus, wie schon andere
350	0,770	Tab. 6
60	1,140	
70	1,460	
80	1,630	
90	1,660	
400	1,570	
10	1,375	
20	1,140	
30	0,940	
40	0,790	
50	0,690	

Autoren z. B. ANNERSTEN, GRÖNWALL und KÖIW⁴; LEHMANN und MICHAELIS⁵, daß das (Nor) Adrenalin in zwei Formen im Plasma vorkommt. Es wäre dies die freie und die an Eiweiß gebundene, möglicherweise inaktive Form. Das würde dann in praxi bedeuten, daß bei vorausgehender Enteiweißung nur die freie Form erfaßt wird, während die gebundene durch die Eiweißfällung verloren ging und sich somit der Bestimmung entzog. Will man aber trotzdem die Gesamtmenge bestimmen, so ist nur die für die freie Form gefundene Konzentration mit dem Faktor 3 zu multiplizieren.

Es zeigte sich nun im Rahmen meiner Untersuchungen, daß nicht jedes Plasma gleich viel (Nor) Adrenalin in gebundener Form enthält. Im ganzen jedoch ist die Bestimmung der freien Form ausreichend, denn durch den errechneten Faktor 3 läßt sich doch die Gesamtmenge annähernd sicher bestimmen, da die Schwankungsbreite in der Menge der gebundenen Form doch nicht so groß ist, daß die Fehler damit wesentlich beeinflußt werden könnten. Nach meinen Erfahrungen empfiehlt es sich nicht, selbst wenn man dabei einen Schritt spart auf die Enteiweißung zu verzichten, denn bei den verschiedenen Plasmata können Störfaktoren auftreten, die es verunmöglichen eine Messung durchzuführen. Dieses Risiko fällt bei Enteiweißung gänzlich weg.

Im Rahmen der Vereinfachung versuchte ich selbstverständlich auch eine direkte Anfärbung im Plasma. Zur Färbung mit NNCD ist aber unbedingt ein pH Wert von 3 erforderlich. Da Plasma nun schwach alkalisch reagiert, ist es notwendig, mit HCL anzusäuern. Dieses Verfahren kommt aber einer Enteiweißung gleich, die noch nicht einmal gesteuert werden kann, weil bei dem einen Plasma mehr, beim anderen weniger Säure zur pH Einstellung notwendig ist.

Eine Verkürzung des Wasserbades im Interesse eines Zeitgewinnes bei der Bestimmung ist nicht ratsam, da ich die Meinung der NNCD Autoren bestätigen konnte, daß nach genau einer Stunde mit nur einer Toleranzgrenze von ± 3 Min. die optimale Färbung und maximale Stabilität der Farbe eingetreten ist. Meiner Ansicht nach ist eine Vereinfachung der ganzen Methode nur noch auf physikalischem Wege, nicht aber mehr auf chemischen möglich. Die Möglichkeit einer physikalischen Beeinflussung wurde von mir nicht geprüft. Es wäre aber sicherlich von großem Interesse, in welcher Eiweißfraktion (Nor) Adrenalin vorwiegend auftritt.

Normalwerte.

Vor Abschluß des Kapitels über die Blutuntersuchungen sei noch einiges

über die Ergebnisse meiner Untersuchungen berichtet. Unter Verwendung der von mir in der Arbeit angegebenen Methode fand ich eine (Nor) Adrenalin-konzentration von 0,5–1,5 γ /ml als freie Adrenalin-körper, entsprechend sind dann die Konzentrationen der gesamten Adrenalin-körper mit 1,5–4,5 γ /ml anzugeben. Mit diesen Ergebnissen stimme ich mit denen von LEHMANN und MICHAELIS⁵ sowie anderen Autoren überein, die auf anderen Wegen zu ähnlichen Ergebnissen kamen.

IV. Versuche mit Urin

Nachdem die Untersuchungen im Plasma über Erwarten günstig ausfielen, versuchte ich auch eine Bestimmung der Kathécholamine im Urin durchzuführen. Ich bediente mich dabei folgender Methode:

A.) Vorbereitung des Urins

- 1.) 50 ml Urin werden durch Eintropfen von 30 % NaOH auf pH 7,4–8 eingestellt.
- 2.) Der sich bildende Niederschlag wird sofort abfiltriert und mit 5 ml Aqua dest. nachgewaschen.
- 3.) Zum Filtrat werden 5 ml Al-Suspension nach SHAW² gegeben und einige Zeit in einem Glaskolben geschwenkt.
- 4.) Das ganze 10 Min. lang bei 3–4000 U/min zentrifugieren.
- 5.) Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen, Reste an der Wand mit einem Filtrierpapier beseitigt.
- 6.) Das Sediment wird mit 3 ml eines Acetatessigsäurepuffers von pH 4,0 aufgelöst und einige Minuten geschwenkt.
- 7.) Erneut bei 3–4000 U/min zentrifugieren.

B.) Färbung mit NNCD

- 1.) Die überstehende Flüssigkeit vorsichtig abpipetiert wird auf pH 3 gebracht.
- 2.) 2,5 ml davon werden mit 0,5 ml einer frisch bereiteten 0,1 % NNCD Lösung versetzt, die auf gleichen pH eingestellt ist.
- 3.) Meß und Vergleichslösung werden 60 Min. bei 35–40° C im verschlossenen Gefäß im Wasserbad erwärmt.
- 4.) Nach genau einer Stunde wird nach angegebener Methode in einem Wellenbereich von 350–450 $m\mu$ photometriert.

Auch hier gilt wiederum das schon beim Plasma Gesagte. Die vorstehende Methode ist als die Standardmethode zu betrachten. Nach ihr wird in

dieser Arbeit verfahren. Abweichungen davon kommen ab und zu vor und werden dann gesondert vermerkt. Nach diesem Schema habe ich etwa 10 Urine überprüft.

Es darf vielleicht gleich zu Beginn dieses Kapitels eine Absorptionskurve eines wie oben vorbehandelten Urins wiedergegeben werden. Der Urin stammt von einer gesunden, jugendlichen Person bei normaler körperlicher Leistung.

Tab. 7

$m\mu$	ε	
350	0,080	Die Kurve steigt also wie bisher von 350 $m\mu$ bis 390/400 $m\mu$ kontinuierlich an, erreicht bei 390/400 $m\mu$ ihr Maximum und fällt dann wieder kontinuierlich ab.
60	0,350	Will man aus dieser Kurve einen Schluß ziehen und die Tagesausscheidung an (Nor) Adrenalin bestimmen, so geht man wie folgt vor:
70	0,680	Ich konzentrierte von 50 ml auf 3 ml, also etwa auf das 16fache. Für die 3 ml liest man auf der Eichkurve annähernd
80	0,830	6 γ /ml ab. Da auf das 16fache konzentriert wurde errechnet sich für die 50 ml eine Konzentration von annähernd
90	0,920	0,6 γ /ml. Der Gesamtgehalt dieser 50 ml wäre dann um annähernd 30 γ anzusetzen. Bei einer Normalausscheidung von 1500 ml/die ergeben sich 900 γ das wären 0,9 mg (Nor) Adrenalinausscheidung für einen Tag.
400	0,920	
10	0,900	
20	0,820	
30	0,770	
40	0,700	
50	0,620	

Zusatzuntersuchungen

Um auch hier beim Urin zu überprüfen ob das auftretende Maximum bei 390/400 $m\mu$ (Nor) Adrenalinspezifisch ist, wurden dem Urin Zusätze von Suprarenin-Hoechst beigegeben. Dabei zeigte sich, daß das Maximum immer an der gleichen Stelle auftrat. Jedoch war bei Zusätzen bis zu 100 γ /ml kein Anstieg des Maximums als vielmehr ein Abfall festzustellen. Erst beim Zugeben von über 100 γ /ml konnte ich einen Anstieg des Maximums erzielen.

Ich versuchte wiederum eine Erklärung darin zu finden, daß beim Zusatz von Suprarenin-Hoechst im Urin Vorgänge ausgelöst werden, die eine Verschiebung oder Maskierung der Kathechole zur Folge haben (LITTIG⁸). Es dürfte jedoch sicher sein, daß das in der Kurve auftretende Maximum (Nor) Adrenalinspezifisch ist.

Trennung von Noradrenalin und Adrenalin.

Es soll noch darauf hingewiesen werden, daß von SCHULER und HEINRICH¹ noch eine Methode zur Trennung der beiden Substanzen Noradre-

nalin und Adrenalin angegeben wurde. Ich habe diese Trennungsmöglichkeit nicht überprüft, jedoch bin ich auf Grund eigener Voruntersuchungen in dieser Richtung zu dem Schluß gekommen, daß das von den Autoren angegebene Verfahren brauchbar ist. Arbeiten darüber werden noch durchgeführt. In den in dieser Arbeit vorliegenden Untersuchungen handelt es sich immer um die Bestimmung beider Komponenten nebeneinander.

Vergleichslösung.

Auf der Suche nach einer geeigneten, spezifischen Vergleichslösung erschien mir die Zerstörung des Adrenalins nach GOSH⁶ am brauchbarsten.

Dabei ging ich wie folgt vor:

Eine 5 γ /ml Suprareninlösung wird hergestellt. Für die Vergleichslösung werden 3 ml Suprareninstammlösung mit etwas Trichloressigsäure und NaOH in Substanz versetzt. Dann wird Na-Bikarbonat in Substanz zugesetzt und das ganze Gemisch 30 Min. im Wasserbad von 30° C behandelt. Danach erfolgt Färbung nach der von mir in dieser Arbeit angegebenen Methode. Die Messung wird in gleicher Weise durchgeführt wie bisher. Dabei ergibt sich die in Tab. 8 wiedergegebene Kurve. Es tritt also bei 380/90 m μ ein deutliches Maximum auf, das aber wesentlich niedriger ist als das entsprechende Maximum bei Messung gegen die bisher verwendete Vergleichslösung.

Tab. 8

m μ	ϵ	
350	0,195	Daß es sich bei der Vergleichslösung nicht um einen Verdünnungseffekt handelt, konnte ich durch Messung der gefärbten Vergleichslösung gegen Aqua dest. zeigen.
60	0,200	Es müßte im Falle einer reinen Verdünnung ein, wenn
70	0,270	auch niedrigeres Maximum bei 380/90 m μ auftreten.
80	0,295	Statt dessen aber fällt die Kurve im ganzen gemessenen
90	0,280	Bereich kontinuierlich ab. Es dürfte sich bei dieser Art
400	0,265	der Behandlung doch um eine echte Zerstörung von
10	0,255	Adrenalin handeln (LITTIG ⁸).
20	0,250	Da die Herstellung dieser Vergleichslösung sehr viel
30	0,245	Veränderungen herbeiführt, konnte ich mich nicht ent-
40	0,235	schließen, diese auch bei Messungen im Plasma und
50	0,215	Urin zu verwenden. Ich möchte aber doch die Möglichkeit dieses Weges auf-
		zeigen, weil er mir geeignet erscheint, in Fällen, in denen eine Messung nach
		der in vorliegender Arbeit angegebenen Methode Zweifel aufkommen läßt,
		Klarheit zu bringen.

V. Besprechung der Methoden

A.) Im Plasma

Im Plasma ist die angegebene Methode relativ leistungsfähig. Wenn auch anzunehmen ist, daß auch andere Dioxybenzole mitreagieren, die durch das Aluminium mitadsorbiert werden, so ist doch die Spezifität des NNCD Reagenz für klinische Untersuchungen ausreichend um einen Überblick über die Adrenalinsubstanzen im Körper zu bekommen. In Zweifelsfällen bleibt immer noch der Weg über die spezifische Zerstörung des Adrenalins nach GHOSH und Mitarbeitern⁶.

Bei Anwendung der Methode empfiehlt sich jedoch das Plasma zu enteiweißen und nur die freie Form der Katehole zu bestimmen und die Gesamtmenge dann als das dreifache der freien Form anzunehmen. Auch ist es unbedingt nötig das zu untersuchende Blut sofort nach Entnahme zu verarbeiten. Ich konnte nämlich zeigen, daß durch längeres Stehen Veränderungen herbeigeführt werden, die geeignet sind, die Bestimmung sehr fraglich werden zu lassen. Ich hatte die Plasmata in einigen Fällen aufbewahrt und sie von einigen Stunden bis zu einem Tag in verschlossenem Gefäß im Dunkeln bei Zimmertemperatur noch vor der Enteiweißung stehen lassen. Es wurde dann immer das selbe Plasma einmal sofort und der Rest erst nach einigen Stunden oder nach 24 Stunden gemessen. Dabei zeigte sich im Vergleich mit den sofort verarbeiteten Versuchsmengen ein deutlicher Unterschied. Die gemessenen (Nor) Adrenalinmengen nahmen immer mehr ab bis nach 24 Stunden nichts mehr nachgewiesen werden konnte. Es war dann die Extinktion der Vergleichslösung höher als die der Meßlösung.

Wie schon oben in einem eigenen Abschnitt erwähnt, habe ich von der Möglichkeit der Trennung von Noradrenalin und Adrenalin keinen Gebrauch gemacht. Es geschah dies aus dem Wunsche heraus, zunächst eine für die Klinik brauchbare Untersuchung auf den ganzen Komplex Noradrenalin=Adrenalin angeben zu können.

B.) Im Urin

Urin bietet die Möglichkeit, leicht große Mengen zu gewinnen und damit eine höhere Konzentration zu erreichen. Dennoch möchte ich auf Grund meiner Erfahrung sagen, daß eine Bestimmung im Plasma sicherer ist. Die Störungsmöglichkeit durch Harnfarbstoffe ist doch nicht von der Hand zu weisen. Dennoch bietet der Urin noch einige Vorteile, die nicht zu unterschätzen sind, nämlich der Wegfall der Enteiweißung und die Tatsache,

daß ich selbst nach sehr langem Stehen keine Veränderung wie im Plasma beobachten konnte.

Es sei noch kurz erwähnt, daß ich im Urin die Untersuchungen ohne Hydrolyse des Harns mit konzentrierter Schwefelsäure durchgeführt habe. Damit wurde von mir nur die freie Form (Nor) Adrenalin gemessen, nicht also die gebundene, die nach verschiedenen Autoren (siehe bei LITTIG⁸) durch Hydrolyse frei werden soll. Es lag auch das Schwergewicht meiner Arbeit auf der Bestimmung des (Nor) Adrenalin im Plasma mit Hilfe des NNCD Reagenz.

Will man im konkreten Fall einen Überblick über die (Nor) Adrenalinverhältnisse im menschlichen Organismus erhalten, so empfiehlt sich unbedingt eine Untersuchung von Plasma und Urin. Auch ist es unbedingt erforderlich vor einer absoluten Aussage mehrere Untersuchungen an verschiedenen Tagen anzustellen. Die Bestimmungen sollen nur von Personen ausgeführt werden, die über eine hinreichende experimentelle Erfahrung verfügen, ebenso wie die erhaltenen Kurven nur von Leuten mit photometrischer Praxis ausgewertet werden sollen.

Am Schluß dieses Abschnittes sei noch betont, daß sich die Angaben in meiner Arbeit immer auf Suprarenin-Hoechst beziehen, das mir bei meinen Untersuchungen als Adrenalinkörper diene und mit dem ja auch die Eichkurve am Beginne dieser Arbeit erhalten wurde.

C.) Fehlerbreite

Ganz kurz möchte ich abschließend noch auf die Fehlerbreite der Methode eingehen. Es sei gesagt, daß es sich bei diesen Angaben keineswegs um eine Berechnung der Breite handelt, sondern vielmehr um eine Schätzung auf Grund meiner Erfahrung. Es kann deshalb gut möglich sein, daß ich die Fehlerbreite zu groß angebe. Aber ich glaube, daß angesichts der ungeheueren Schwierigkeiten die sich einer chemischen=photometrischen Bestimmung von (Nor) Adrenalin entgegenstellen, es eher angebracht ist, der Sache mit Skepsis gegenüberzustehen, als große Versprechungen zu machen. Ich möchte die Spanne der ganzen Fehlermöglichkeiten mit etwa 50 % ansetzen. Zunächst ein erstaunlich hoher Prozentsatz. Unter Berücksichtigung der Vielzahl von chemischen Verfahren in der Diagnostik und angesichts der schon angedeuteten Schwierigkeiten im speziellen Fall der Katecholaminbestimmung in Plasma und Urin aber doch eine Höhe der Fehlermöglichkeiten, die erträglich erscheint. Für den Chemiker natürlich ein Unding, aber für den Arzt am Krankenbett doch eine wesentliche Hilfe.

VI. Nachweis eines Phaeochromozytoms

Zum Nachweis einer vermehrten (Nor) Adrenalinausschüttung bei einem Fall unserer Klinik wurden in Plasma und Urin die oben angegebenen Methoden verwendet. Bei einigen Untersuchungen diente jedoch als Vergleichslösung reine NNCD Lösung. Ich möchte mich aber im folgenden nur auf eine Wiedergabe der von mir errechneten Konzentrationen der Adrenalinkörper beschränken und auf eine Reproduktion von Kurven verzichten. Der Kurventyp bleibt ja immer der gleiche, nur, daß das auftretende Maximum erheblich höher liegt. Es sei erwähnt, daß in diesem Falle auch noch die von EDEL⁸ ausgearbeitete Jod-Adrenochromreaktion ein deutlich erhöhtes Maximum zeigte.

Beim Fall unserer Klinik handelt es sich um die 28-jährige Patientin Maria L. mit folgender Vorgeschichte und Befunden. Sie war schon einmal früher in unserer Klinik. Es wurde damals jedoch keine Untersuchung auf Katechinamine vorgenommen.

Die Familienanamnese ist unauffällig. In der eigenen Anamnese sind neben grippalen Infekten, einer Appendektomie und Tonsillektomie, sowie mehrerer polyarthritischer Schübe einer Gelbsucht und mehreren Unfällen keine schweren Erkrankungen zu eruieren.

Ihre jetzige Erkrankung geht zurück auf November 1952. Damals hatte sie erstmals Herzbeschwerden in Form von Herzklopfen und Herzstechen. Auf Strophantinbehandlung besserten sich die Beschwerden. Die Patientin erlitt dann einen Autounfall, der Knieerguß rechts und eine Commotio cerebri et thoracis zur Folge hatte. Im Laufe des Krankenlagers stellte sich eine Venenentzündung ein, die am rechten Unterschenkel lokalisiert war. Im Gefolge dieses Geschehens kam es zu plötzlicher Übelkeit mit einem Stich in der Herzgegend und Atemnot. Man dachte an einen Infarkt, der sich aber im EKG nicht verifizieren ließ. Von da ab kam es zu Herzanfällen folgender Art:

Es trat ein stark krampfendes Gefühl auf, die Herztätigkeit wurde sehr schnell. Die Patientin hatte das Gefühl, als „befände sich ihr Brustkorb in einem Schraubstock“. Gleichzeitig Auftreten von brennenden Schmerzen im ganzen Thoraxraum und am Hals von einem zuschnürendem Gefühl. Diese Anfälle traten unabhängig von irgendeinem Ereignis, anfänglich 4–5 mal täglich, auf, wurden dann geringer und zuletzt waren nur mehr nach Pausen von einigen Tagen solche Anfälle vorhanden.

Die Untersuchungsbefunde zeigen außer einer mäßigen Struma, einer Verspannung der Rückenmuskulatur besonders links und einer geringgradig-

gen Bewegungseinschränkung im linken Knie, sowie einer tachykarden Herzaktion keine auffallende Normabweichung.

Man dachte deshalb an eine Hyperthyreose und Vegetative Dystonie.

Ein halbes Jahr nach ihrer Entlassung gelangt die Patientin erneut zur Aufnahme. Die Patientin hatte in der Zwischenzeit wiederholt Anfälle, anfangs in 2–3 täglichen Abständen und dann in 4–5 täglichen Intervallen. Jetzt auch nachts aus dem Schlaf heraus. Sie erwacht dann von plötzlichen Herzschmerzen, die bis in die linke Halsseite und Schläfengegend ausstrahlen. Dabei starke Tachykardie und Blutdruckanstieg. Dabei schon einigemal bewußtlos geworden. Keine Beziehungen zu Aufregungen, vor den Menses jedoch gehäuftes Auftreten dieser Zustände.

Bei der Untersuchung zeigt sich zunächst außer einem Systolicum und manchmal Praesystolicum sowie einem positiven Rogoff'schen Zeichen links keine Veränderung gegenüber dem ersten Klinikaufenthalt.

Bei der längeren stationären Beobachtung lassen sich folgende Befunde erheben. Während der krisenhaften Zustände, die bis zu 2 Stunden andauern, zeigt sich ein Blutdruckanstieg auf über 200 mm Hg systolisch bei etwa gleichbleibender Pulsfrequenz. Oft, jedoch nicht immer Blutzuckeranstieg auf ca. 170 mg %, Anstieg der Leukocyten bis zu 10 000. Grundumsatz nicht erhöht, Cold-Pressure negativ. Histamintest mit 0,025 i. v. negativ. Der Regitintest dagegen mit 5–30 mg immer positiv besonders während der Anfälle. Dabei senkt sich der Blutdruck schlagartig, Frequenz bleibt jedoch hoch. Die Anfallsunterbrechung gelingt nur mit Doryl i. v., jedoch sonst nicht einmal mit Narkose. Im EKG während der Anfälle keine pathologischen Veränderungen, danach bisweilen Verschiebung der Reizbildung zwar noch im Vorhof, jedoch in tiefer gelegene Zentren.

Röntgenologisch zeigte sich bei retroperitonealer Luftfüllung mit i. v. Pyelogramm kombiniert ein nicht ganz einwandfreier Befund im Bereich der linken Nebenniere im Sinn einer fraglichen Vergrößerung.

Die von mir durchgeführte Untersuchung auf (Nor) Adrenalinsubstanzen im Blut und Urin nach in dieser Arbeit angegebenen Methoden, zeigte folgende Ergebnisse:

Das Blut stammte aus der anfallsfreien Zeit, der Urin war immer über 24 Stunden gesammelter Urin. Es darf noch erwähnt werden, daß die Angaben im Urin sich jeweils auf die 50 ml Urin, der zur Untersuchung kam, beziehen. Eine Umrechnung auf die Tagesausscheidung erfolgte nicht.

Die Erstuntersuchung auf (Nor) Adrenalin ergab am 15. 12. 1955 im Plasma eine Menge von annähernd 12 γ /ml freie Substanzen; die Gesamt-

menge errechnet sich somit auf annähernd 36 γ /ml. Im Urin fanden sich am 15. 12. 1955 annähernd 11 γ /ml und am 17. 12. 1955 annähernd 8 γ /ml.

Damit war ein wesentlich höherer (Nor) Adrenalinspiegel als normal gegeben. Es war jedoch keine Aussage über den Sitz des mutmaßlichen Phaeochromozytoms zu machen. Auf Grund der Röntgenbefunde war doch ein Sitz an der linken Nebenniere wahrscheinlich. Es erfolgte deshalb am 19. 12. 1955 die Operation mit folgendem Ergebnis:

Zuerst Freilegung der linken Nebenniere, die nicht wesentlich verändert oder vergrößert erscheint. Trotzdem auf Grund der Vorgeschichte Exstirpation der linken Nebenniere in toto. Rechte Nebenniere ebenfalls ohne Besonderheit, es wird ein Stück entnommen.

Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß alle übersandten Nebennierenstückchen (sowohl die aus der linken wie aus der rechten Nebenniere) eine lipoid=reiche Rinde und kräftig entwickelte Marksubstanz, aber keinerlei Geschwulsteinlagerungen erkennen lassen.

Trotzdem der Operationsbericht und die Histologie keinen Anhalt für einen Tumor gaben, war die Patientin im Anschluß an die Operation, bei komplikationslosem Heilverlauf, anfallsfrei. Zunächst wartete ich einige Zeit ab, um einen Einfluß durch den Operationsstress zu vermeiden und prüfte dann erst am 3. 1. 1956 Blut und 24 Stunden Urin auf (Nor) Adrenalin. Die vorgenommene Untersuchung zeigte nun folgende Werte:

Plasma annähernd 3 γ /ml frei und eine Gesamtmenge von etwa 9 γ /ml (Nor) Adrenalin. Im Urin fanden sich annähernd 6 γ /ml (Nor) Adrenalin.

Es zeigte sich also doch eine ganz erhebliche Verminderung der Substanzen in Plasma und Urin. Wenn auch die Werte gegenüber der Norm noch deutlich erhöht waren, so glaubten wir doch, sowohl auf Grund meiner Befunde, als auch auf Grund des klinischen Bildes, daß vielleicht doch durch die kräftig entwickelte Marksubstanz das Bild des Phaeochromozytoms ausgelöst wurde.

Leider kam es bei der Patientin 5 Wochen post operationem erneut zu Anfällen der geschilderten Art, die nur mit Regitin zu kupieren waren. Eine daraufhin nochmals am 13. 2. 1956 vorgenommene Untersuchung auf Katecholsubstanzen ergab folgendes Bild.

Plasma: 2 γ /ml frei

Urin: 5 γ /ml (50 ml)

6 γ /ml Gesamtmenge

Auch diese Untersuchung erfolgte in der anfallsfreien Zeit. Da nun die Werte insgesamt niedriger lagen wie unmittelbar post operationem, wo die Patientin völlig frei von Anfällen war, möchte ich dazu noch folgendes sagen:

Es ist durchaus möglich, daß die post operationem aufgetretenen Schwankungen im Bereich der Fehlergrenze liegen. Jedoch glaube ich, da die Werte immer über denen der Norm lagen, daß die Patientin nicht gleichmäßig (Nor) Adrenalin produziert. Es zeigte sich ja schon bei meinen Normalfällen eine Schwankung die von körperlicher und psychischer Belastung abhängig war. (Nor) Adrenalin ist eben doch ein Körper der für die Bereitstellung des Organismus für Belastungen neben anderen Faktoren zu sorgen hat.

Was die Höhe der gefundenen Werte angeht, so stimmen diese gut mit denen anderer Autoren überein (siehe bei LITTIG⁸). Was unseren Fall angeht, so glauben wir doch, daß bei der Patientin noch extrarenale Faktoren vorhanden sind, die die (Nor) Adrenalinausschüttung bewirken. Sicherlich war die Exstirpation der linken Nebenniere nicht ohne Einfluß auf die Gesamtkatecholaminproduktion. Nach unseren Befunden jedenfalls ist ein extrarenales Phaeochromozytom nicht auszuschließen.

Zusammenfassung

In vorliegender Arbeit wird über die Anwendung des NNCD-Reagenz berichtet. Zunächst werden eigene Modellversuche geschildert auf deren Grundlage es versucht wurde, eine Methode zum Nachweis der Katechamine in Blut und Urin auf photometrischem Wege anzugeben.

Im Anschluß an diese Berichte befaßt sich die Arbeit dann noch mit den Normalkonzentrationen im Plasma. Es wird dann noch die Möglichkeit einer Trennung von Noradrenalin und Adrenalin erörtert und gesagt, daß Arbeiten in dieser Richtung noch nicht abgeschlossen sind. In vorliegender Abhandlung sind immer beide Stoffe nebeneinander gleichmäßig erfaßt.

Zum Abschluß der Arbeit wird noch über einen Fall unserer Klinik berichtet, bei dem ein Phaeochromozytom der linken Nebenniere angenommen wurde und nach der Operation auf Grund der Befunde doch ein extrarenales vermutet werden muß.

BENUTZTES SCHRIFTTUM

- 1) SCHULER und HEINRICH, *Experim.* 1/235 (1945)
SCHULER und HEINRICH, *Helv. Chim. Acta* 30/886 (1947)
SCHULER und HEINRICH, *Helv. Chim. Acta* 31/320 (1948)
SCHULER und HEINRICH, *Helv. Phys. Acta* 7, C22/23 (1949)
SCHULER und HEINRICH, *Helv. Phys. Acta* 7, C 36/37 (1949)
SCHULER und HEINRICH, *Helv. Chim. Acta* 7/410 (1949)
- 2) SHAW F. H., *Biochem. J.* 32/19 (1938)
- 3) ANNERSTEN S. GRÖNWALL A. und KÖIW E., *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1/136 (1949)
- 4) ANNERSTEN S. GRÖNWALL A. UND KÖIW E., *Nature* 163/136 (1949)
- 5) LEHMAN und MICHAELIS, *Arbeitsphysiologie* 12/246 (1942)
- 6) GHOSH NC, DEB C. und BANERJEE S., *J. of biol. Chem.* 192/867 (1951)
- 7) EULER v. US., *Acta physiol. scand.* 19/74 (1949)
EULER v. US., *Nature* 163/642 (1949)
EULER v. US., *Ergebn. Phys.* 46/261 (1950)
EULER v. US., *Acta physiol. scand.* 16/63 (1946)
- 8) KUMPF W., *Dissertation München* (1956)
EDEL H., *Dissertation München* (1956)
LITTIG M., *Dissertation München* (1956)

An dieser Stelle sei es mir noch erlaubt meinem geschätzten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Bingold †, für die Überlassung des Themas meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Mein weiterer Dank gebührt an dieser Stelle Herrn Dr. med. C. H. Brilmayer, für die stets gerne gegebenen Ratschläge und seine Unterstützung bei den Verhandlungen mit den Ärzten der Klinik.

Lebenslauf

Ich, Josef Kern bin am 27. April 1930 als Sohn des Chemikers Dr. Max Kern und dessen Ehefrau Elvira, geb. Pledl zu München geboren. Meine Kindheit verbrachte ich in Freising, wo ich dann auch im Jahre 1936 in die Volksschule St. Georg eintrat. Nach dem Besuch von fünf Klassen machte ich 1941 die Aufnahmeprüfung in die Oberschule für Jungen in Freising. Nach Abschluß meiner Studien mit dem Abitur begann ich im Wintersemester 1951/52 an der Universität München mit dem Studium der Medizin, wo ich auch im April 1954 die ärztliche Vorprüfung bestand. Meine klinischen Studien setzte ich vorchriftsmäßig ebenfalls in München fort.

INHALT

Einleitung		7
Vorbemerkungen		8
Eigene Modellversuche		8
Versuche mit Plasma		11
Methodik, Erläuterung der Methode, Zusatzversuche, Brauch- barkeit der Al-Suspension, Einfluß der Enteiweißung, Normal- werte		
Versuche mit Urin		18
Methodik, Zusatzuntersuchungen, Trennung von Noradrenalin und Adrenalin, Vergleichslösung		
Besprechung der Methoden		21
Im Plasma, Im Urin, Fehlerbreite		
Nachweis eines Phaeochromozytoms		23
Anamnese, Befunde, Laboruntersuchungen, Operationsbericht, Histologie, Zustand nach der Operation, Verhältnisse der Kate- chinaminkonzentrationen		
Zusammenfassung		26
Benutztes Schrifttum		27

